



Résistance de *Plasmodium falciparum* à l'atovaquone-proguanil

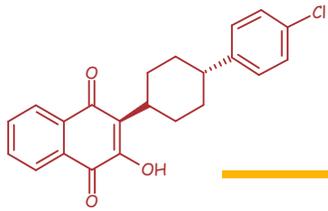
Lise MUSSET

Soutenance pour l'obtention du grade de Docteur de l'Université Paris 5

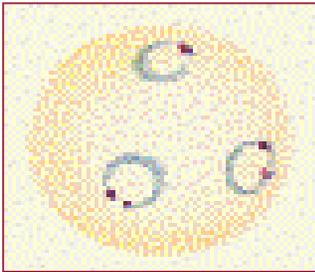
Directeur de thèse
Jacques LE BRAS

Centre National de Référence du Paludisme
Laboratoire de Parasitologie-Mycologie
Hôpital Bichat-Claude Bernard

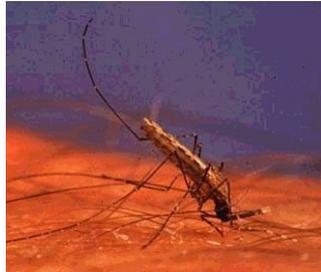
EA 209
Transports membranaires et chimiorésistances
Faculté de Pharmacie de l'Université Paris 5



Le paludisme à *P. falciparum*



Plasmodies
(*Plasmodium falciparum*)

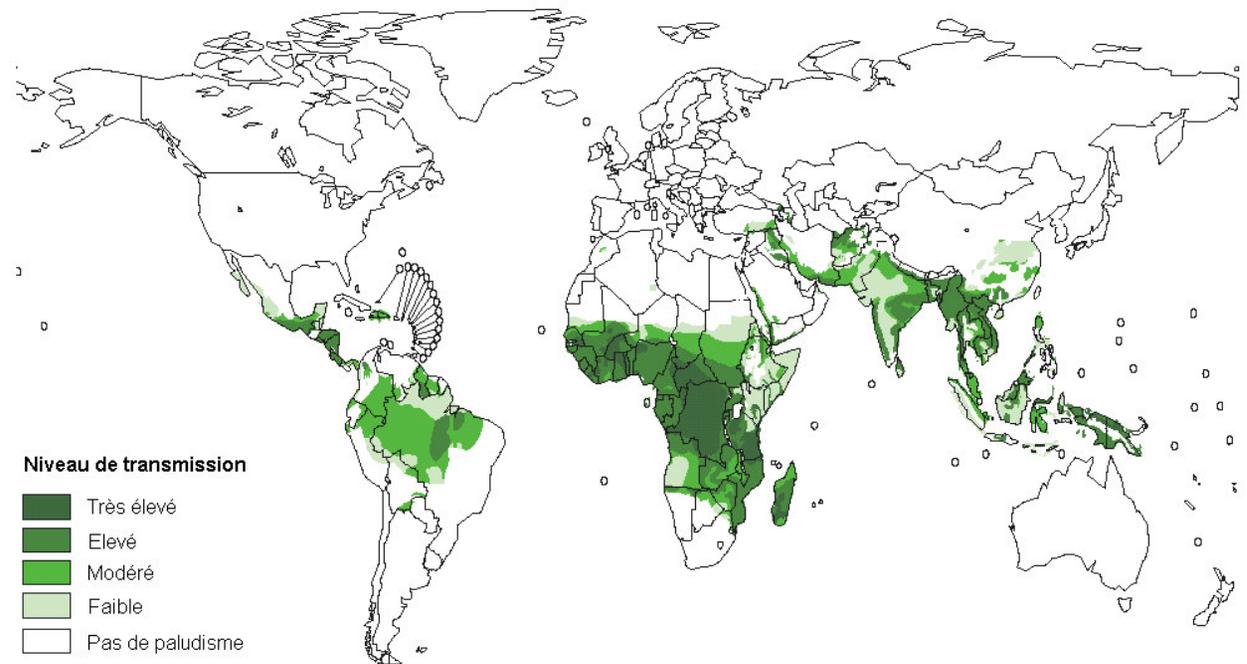


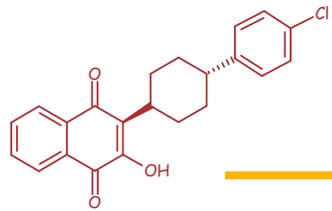
Moustique
(*Anopheles sp.*)



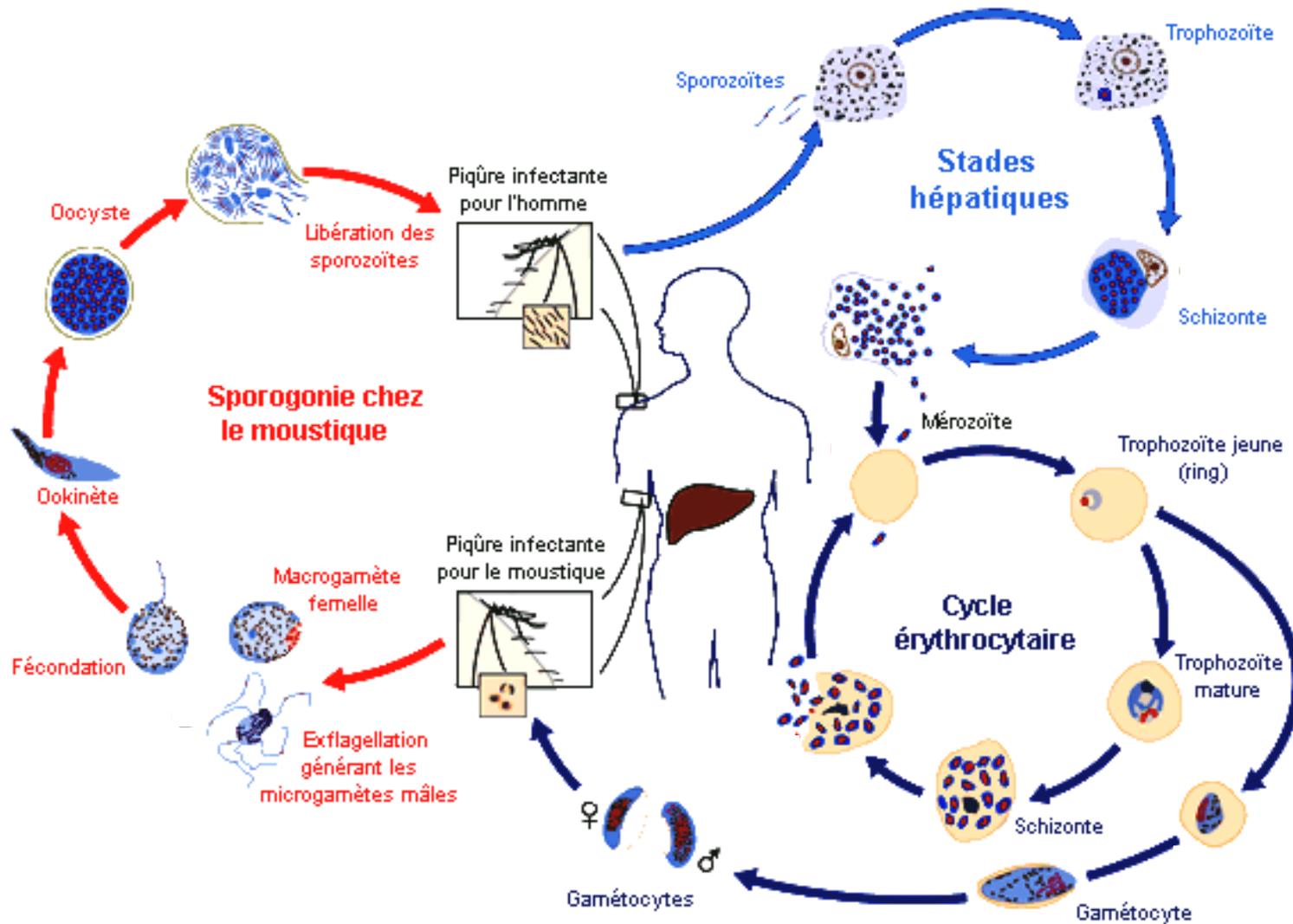
Homme

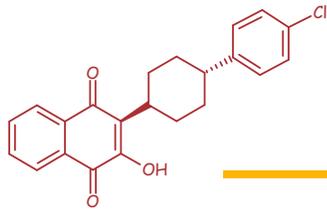
- **Monde**
 - 500 millions d'accès par an
 - ↳ 1 à 3 millions de morts
- **France**
 - 7000 cas importés par an
 - ↳ 20 morts





Cycle de développement de *P. falciparum*





Les antipaludiques

➤ Les lysosomotropes

↳ accumulation dans la vacuole digestive du parasite

- ✓ Chloroquine, quinine, méfloquine, halofantrine, luméfantrine, amodiaquine
- ✓ Les dérivés de l'artémisinine

➤ Les antimétabolites

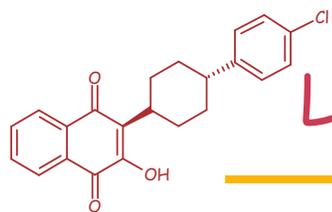
↳ inhibiteurs compétitifs d'enzymes du métabolisme

- ✓ Sulfadoxine-pyriméthamine
- ✓ Atovaquone-proguanil

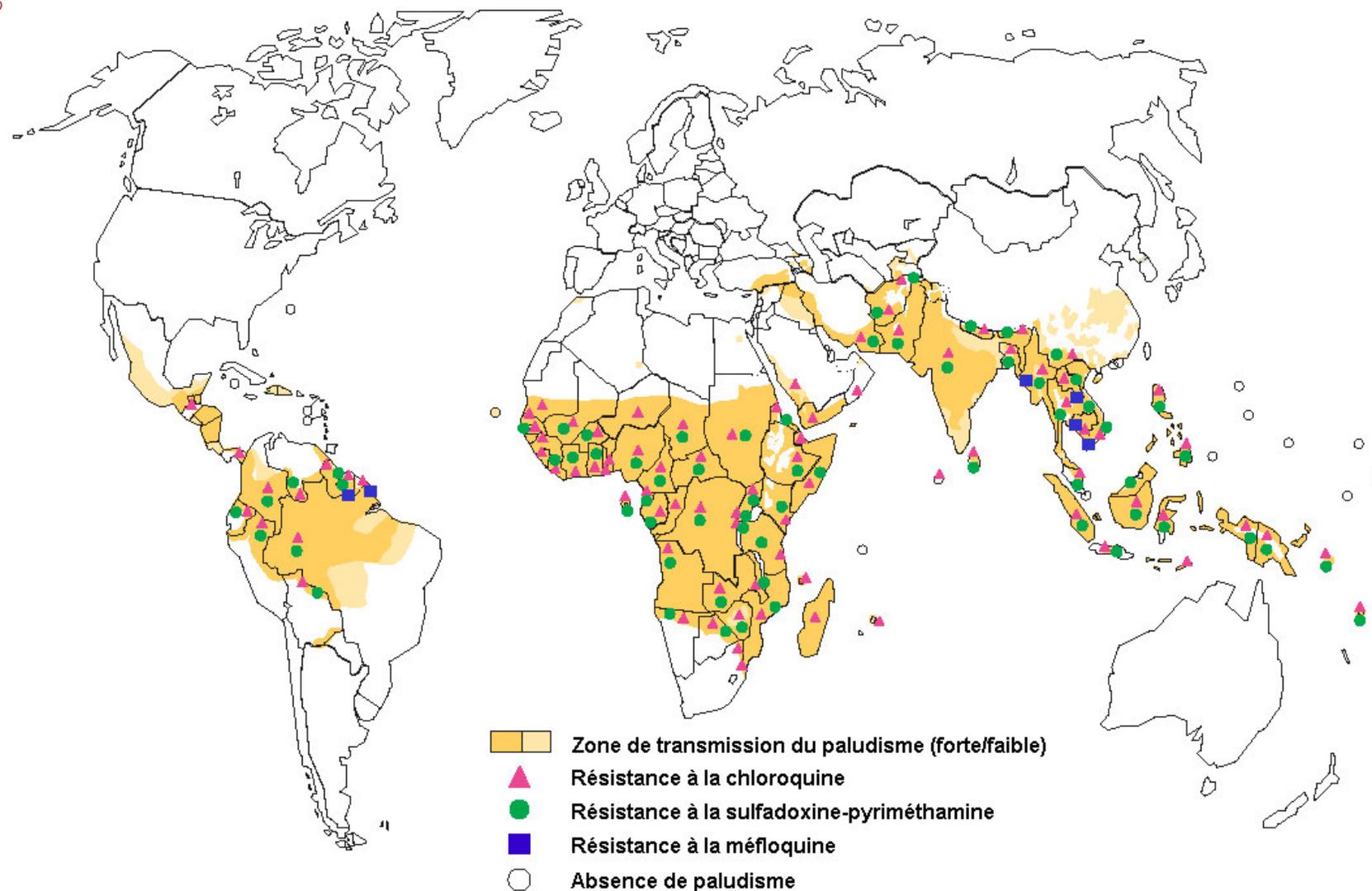
➤ Les antibiotiques

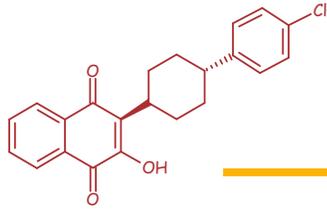
↳ inhibiteurs de la synthèse protéique

- ✓ Cyclines (doxycycline)



La résistance de *P. falciparum* aux antipaludiques





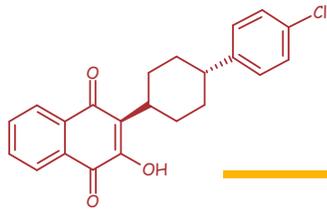
Les mécanismes de résistance de *P. falciparum*

➤ Lysosomotropes

- ✓ Modifications des transporteurs membranaires
- ✓ Amplification génique

➤ Antimétabolites

- ✓ Mutations du gène codant la cible



Historique de l'atovaquone-proguanil (1)

➤ Atovaquone

✓ 1989

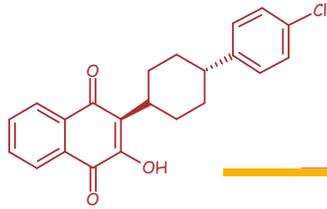
- 566C80 actif sur *Plasmodium berghei*

✓ 1995

- Première utilisation contre le paludisme chez l'homme¹
 - ↳ **30% de rechutes**
- Recherche de synergie²
 - ↳ **association au proguanil**

¹Chiodini 1995, *J Antimicrob Chemother* 36:1073-1078 - Looareesuwan 1996, *Am J Trop Med Hyg* 54:62-66

²Canfield 1995, *Exp Parasitol* 80:373-381



Historique de l'atovaquone-proguanil (2)

➤ Atovaquone-proguanil (Malarone®)

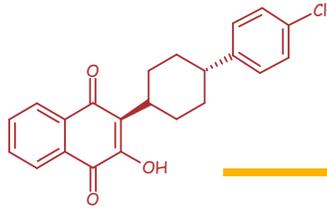
(250 mg d'atovaquone + 100 mg de proguanil par comprimé)

✓ 1997

- AMM traitement des accès simples à *P. falciparum* (adulte)
 - ↳ 4 cp/j pendant 3 jours au milieu d'un repas riche en graisse

✓ 2001

- Extension d'AMM à la prophylaxie (adulte et enfant)
 - ↳ 1 cp/j de la veille du départ jusqu'à une semaine suivant le retour



Pharmacocinétique

	Atovaquone	Proguanil
Biodisponibilité	23 %, très variable	60 %
Demi-vie	41 - 93 h	12 -15 h
Rapport [GR]/[plasma]	0,25	5
Liaison protéique	99 %	75 %
Métabolisation	Aucune	Hépatique
Élimination	Biliaire	Urinaire

Poids¹

↗ volume de distribution et clairance à l'atovaquone

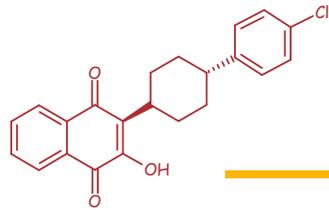
Origine ethnique¹

↗ clairance à l'atovaquone (+165% chez les Asiatiques)

Femme enceinte²

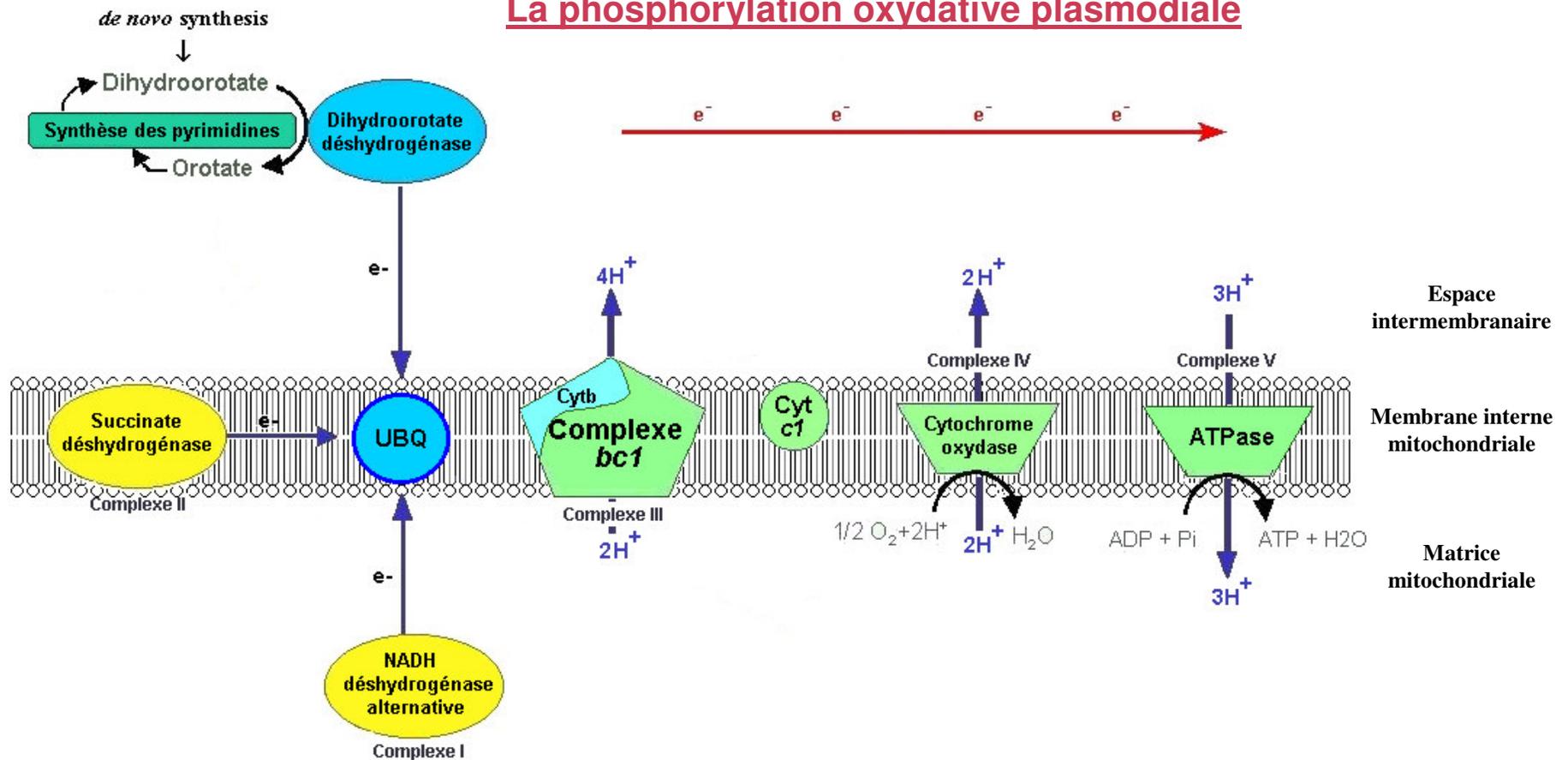
↘ concentrations plasmatiques de moitié

¹Huissein 1997, *Clin Pharmacol Ther* 61:518-530 - ²Na-Bangchang 2005, *Eur J Clin Pharmacol* 61:573-582



Mécanisme d'action de l'atovaquone (1)

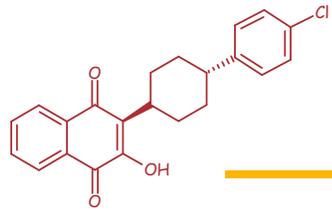
La phosphorylation oxydative plasmodiale



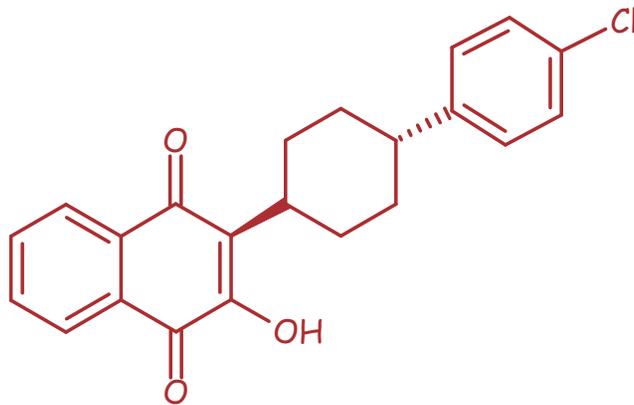
1) Réoxydation de nombreuses enzymes

↳ +++ dihydroorotate déshydrogénase (synthèse *de novo* des pyrimidines)

2) Potentialisation de la membrane mitochondriale

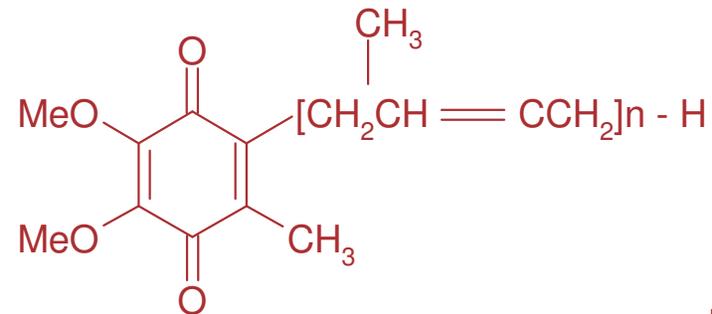


Mécanisme d'action de l'atovaquone (2)



Atovaquone

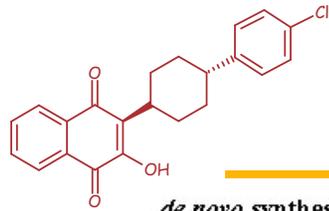
3-[trans-4-(4-chlorophényl)cyclohexyl]-2-hydroxyl-1,4-naphtoquinone



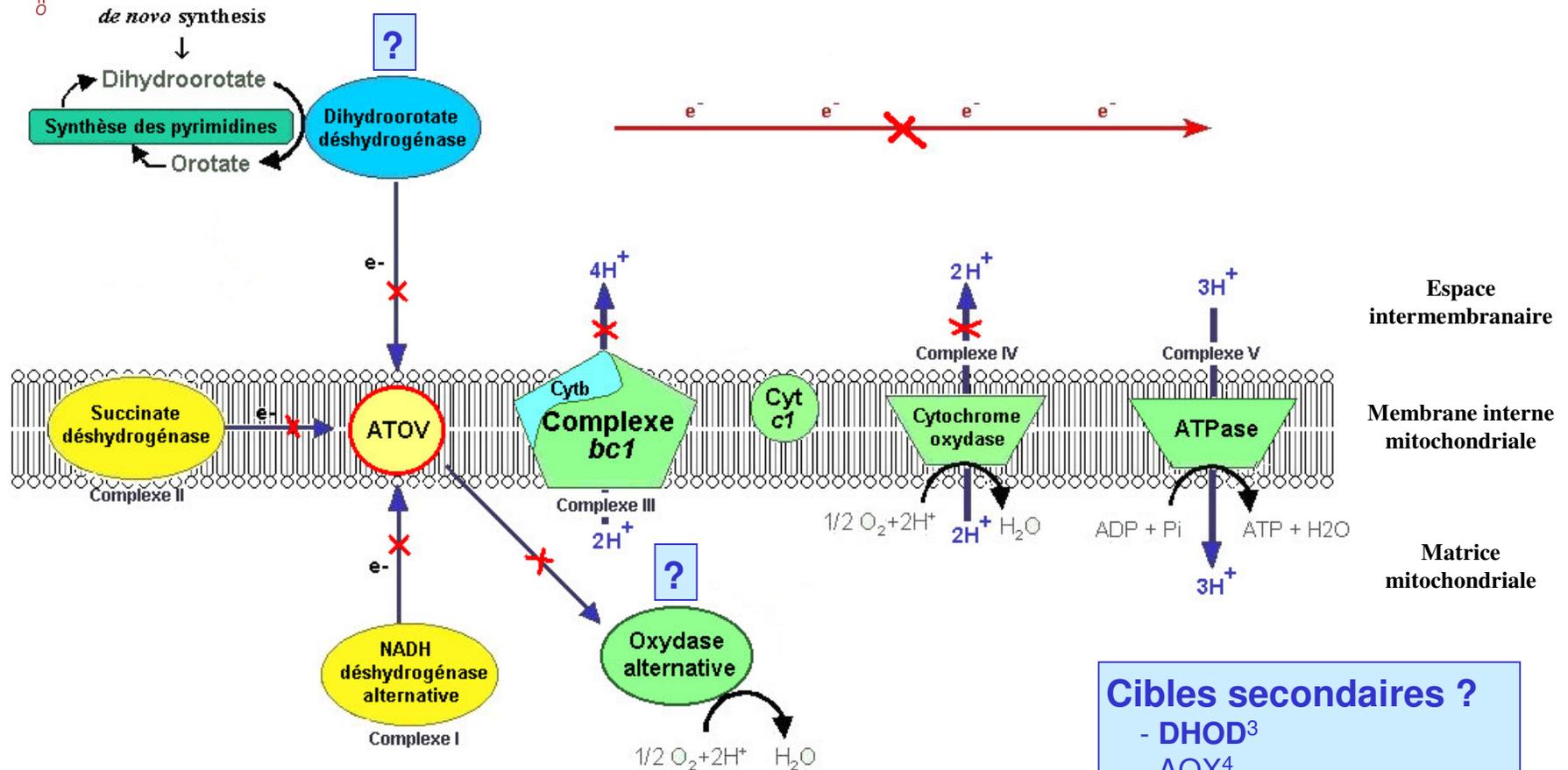
$n = 8 - 10$

Ubiquinone

→ Fixation sur le cytochrome *b*



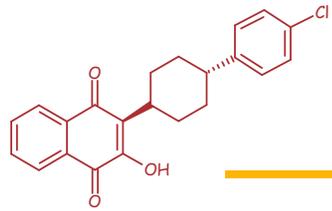
Mécanisme d'action de l'atovaquone (3)



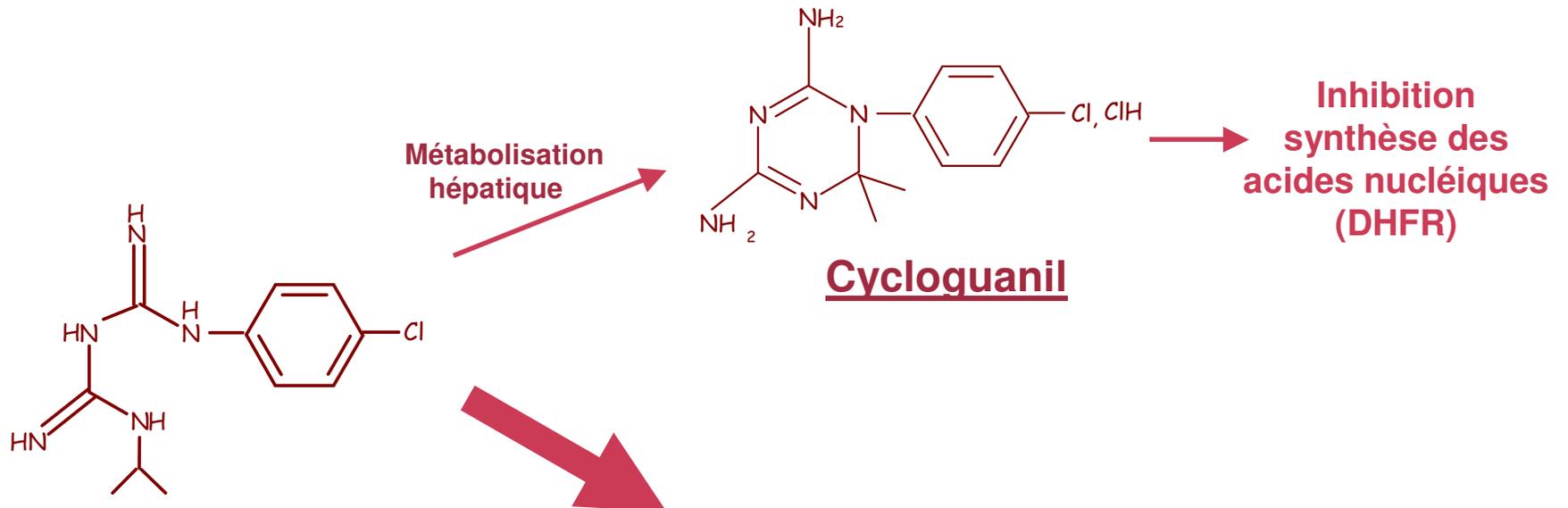
- 1) Inhibition de la synthèse des pyrimidines (40%)²
- 2) Dépotentialisation de la membrane mitochondriale¹

¹Srivastava 1997, *J Biol Chem* 272:3961-3966 - ²Ittarat 1994, *Exp Parasitol* 79:50-56

³Hansen 2004, *Protein Sci* 13:1031-1042 - ⁴Suswan 2001, *Exp Parasitol* 98:180-187 - ⁵Basselin 2005, *Eukaryot Cell* 4:1483-1492



Mécanisme d'action du proguanil

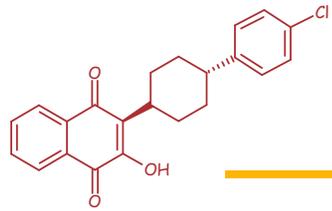


Proguanil

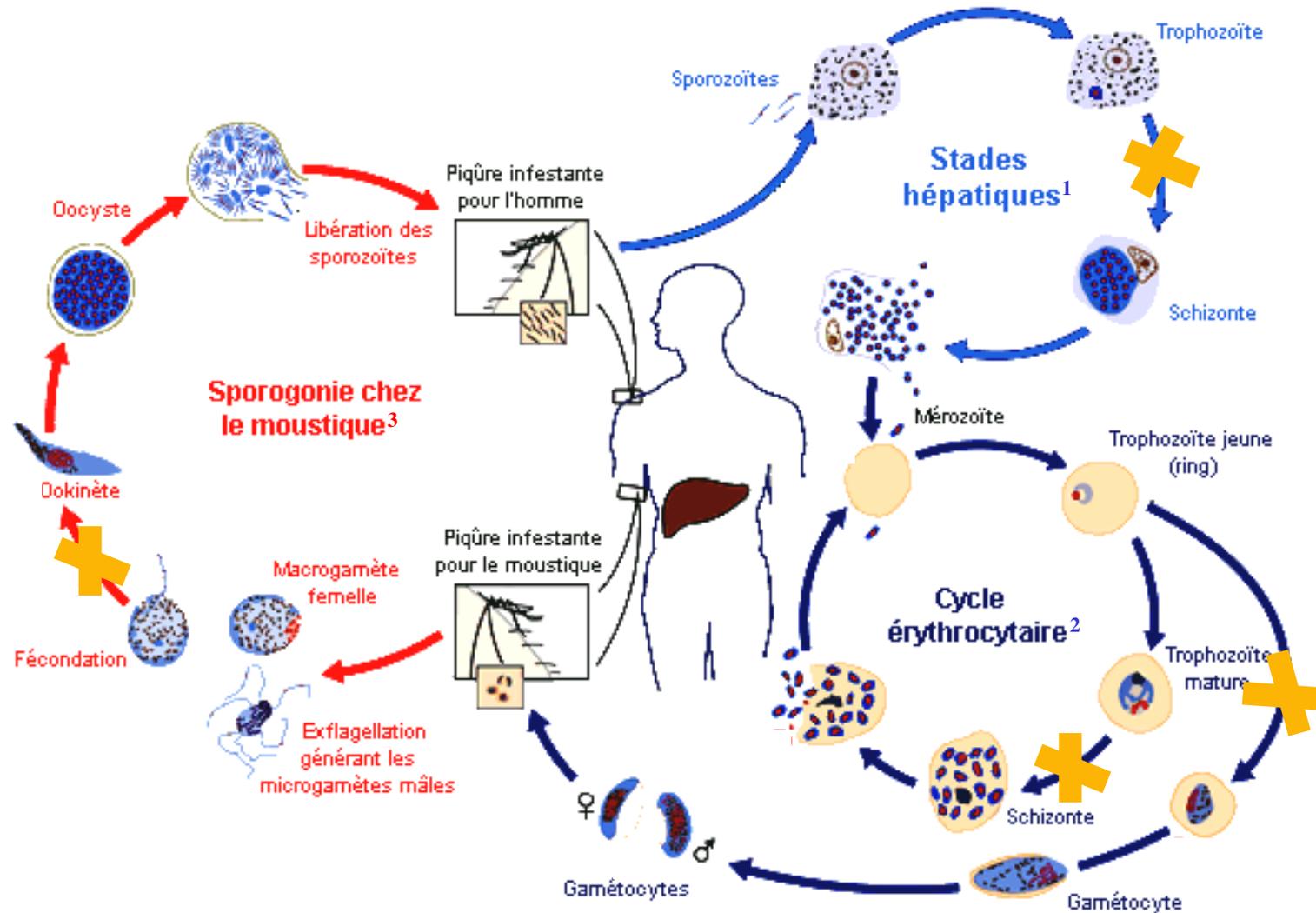
(chloro-4-phényl)-1-isopropyl-5-biguanide

Synergie avec l'atovaquone

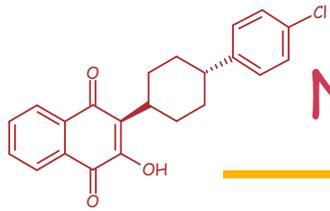
⇒ dépoléarisation de la
membrane mitochondriale
(mécanisme d'action ?)



Activité de l'atovaquone-proguanil

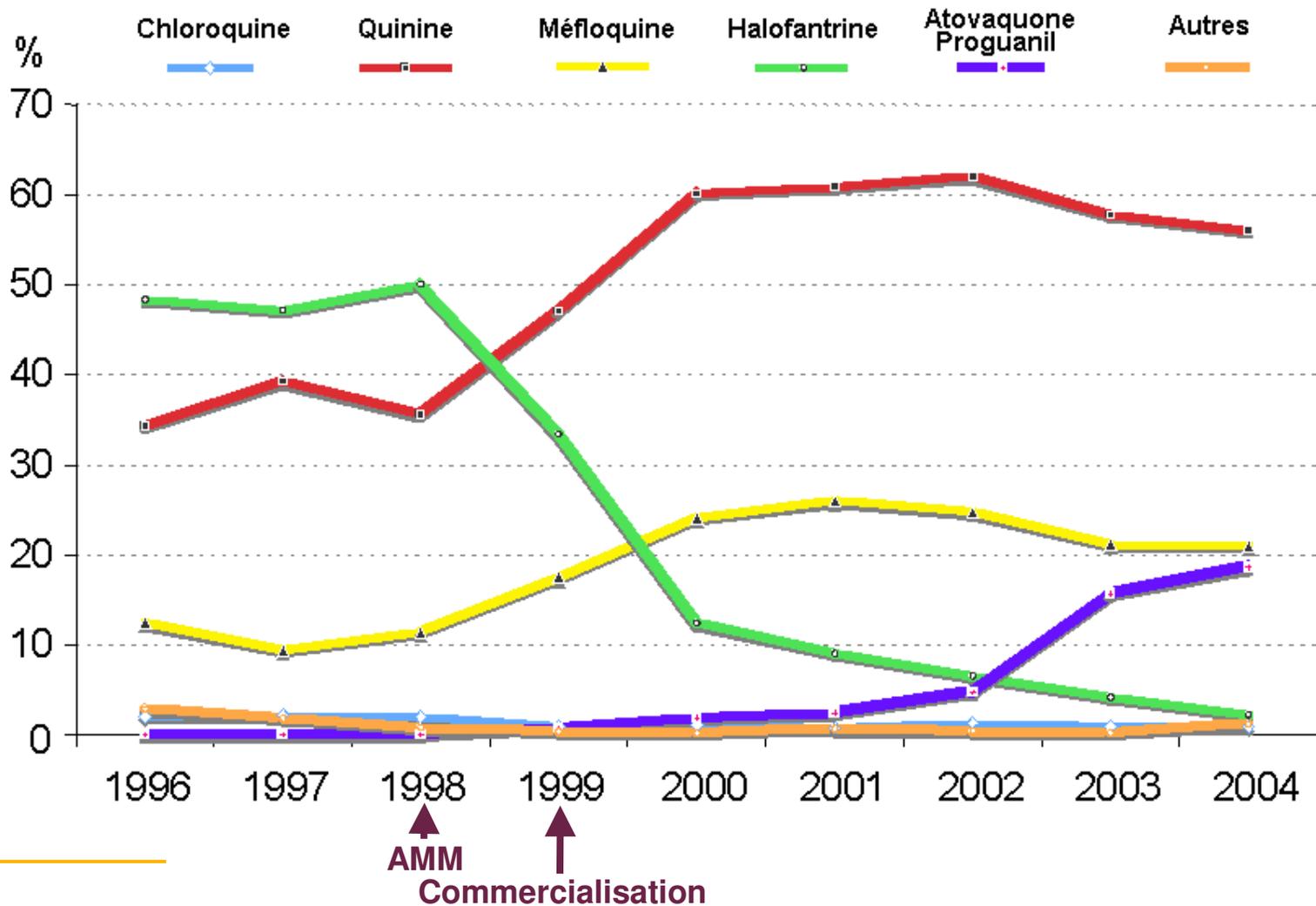


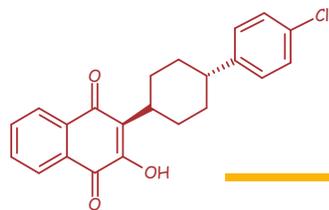
¹Davies 1989, *Acta Leiden* 58:115-128 - ²Fleck 1996, *Trans R Soc Trop Med Hyg* 90:309-312 - ³Fowler 1995, *J Parasitol* 81:452-458



Niveaux d'utilisation des antipaludiques en France

Traitement des accès palustres

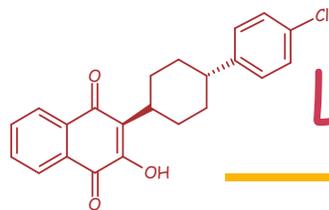




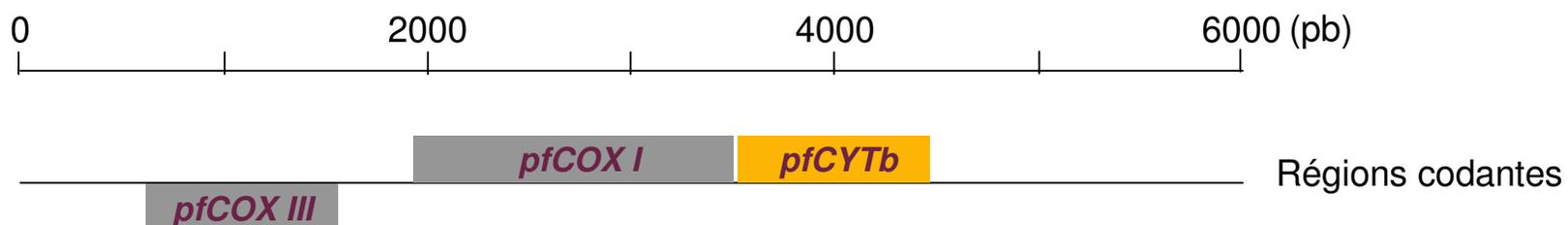
Échecs à l'atovaquone-proguanil publiés

	2002 Fivelman	2003 Schwöbel	2003 David	2003 Färnert	2003 Schwartz	2004 Wichmann					2005 Kuhn
Jour de l'échec	28	28	21	28	30	21	28	21	3	16	19
Confirmation résistance	OK	ND	ND	OK	ND	ND	ND	ND	ND	OK	OK
Mutation <i>pficytB</i>	Y268N	Y268S	Y268S	Y268S	Y268S	Non	Y268S	Non	Non	Non	Y268S

↳ Résistance à l'association atovaquone-proguanil

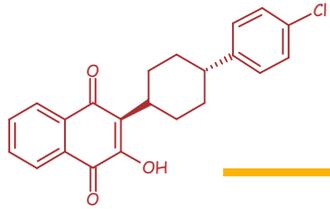


Le gène du cytochrome *b* chez *P. falciparum*



➤ Génome mitochondrial

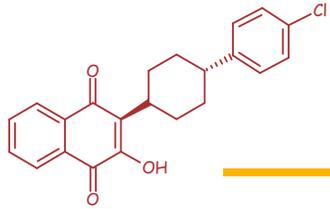
- ✓ Linéaire
- ✓ Répété en tandem (multicopie)
- ✓ Réplication simultanée avec l'ADN nucléaire
- ✓ Code des ARN ribosomiaux et trois protéines



Résistance à l'atovaquone-proguanil (AP)

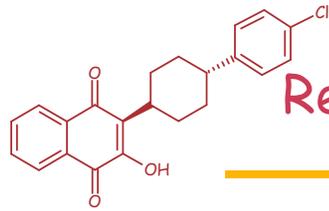
Objectifs

- 1) **Sensibilité *in vitro*** à l'atovaquone d'isolats de *P. falciparum*
- 2) **Résistance expérimentale** générée par pression médicamenteuse
 - ✓ Recherche des marqueurs génomiques de la résistance
- 3) **Résistance observée *in vivo*** chez l'homme
 - ✓ Identification des marqueurs génomiques naturels de la résistance
- 4) **Origine des marqueurs génomiques de la résistance** à l'AP



1^{ère} partie

Analyse de la sensibilité *in vitro*
d'isolats de *P. falciparum* à l'atovaquone



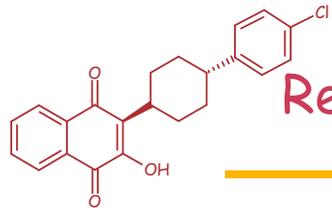
Relations phénotype atovaquone *in vitro* - génotype *pfcytb* (1)

Janvier 1999 - Décembre 2004

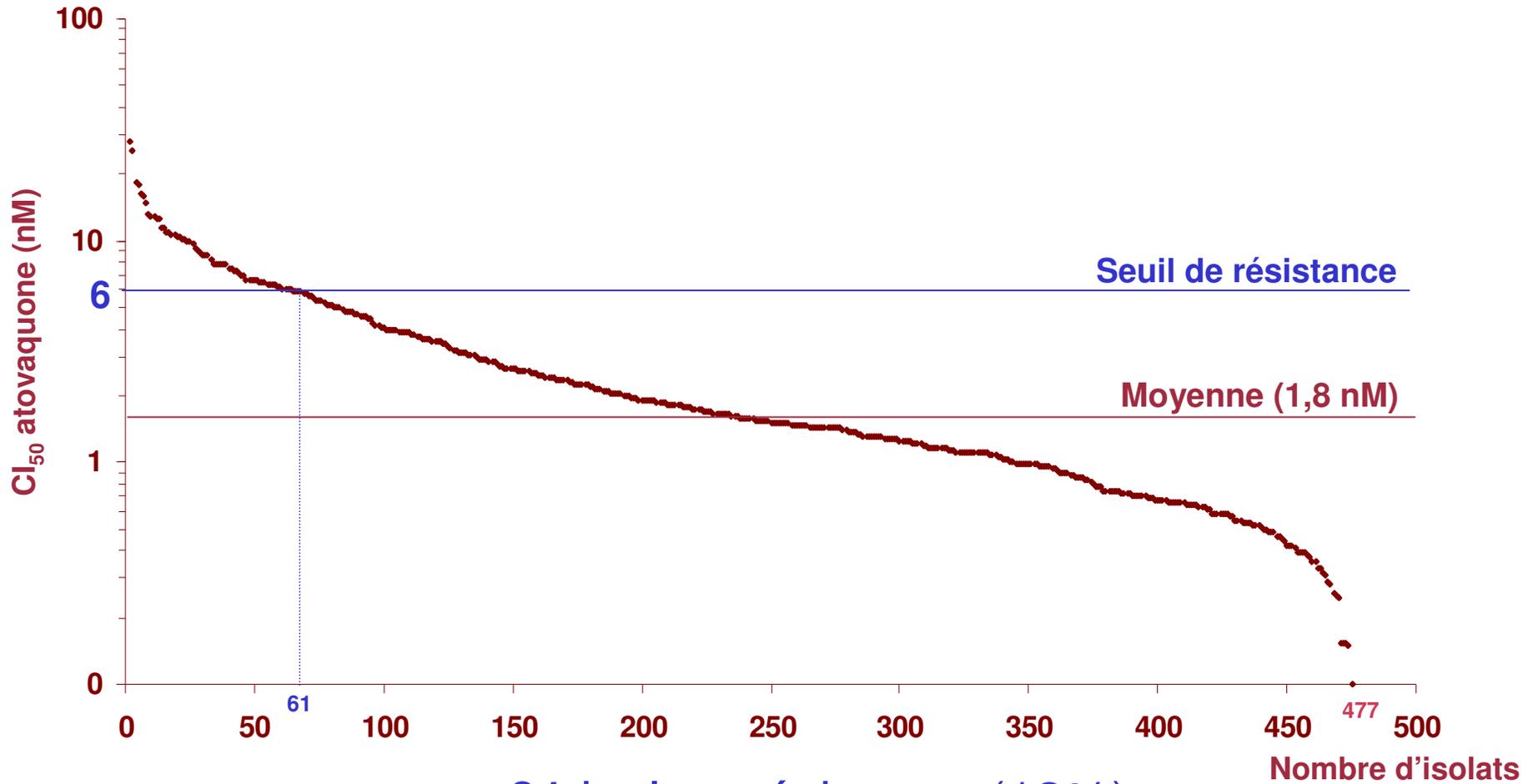
- Isolats de *P. falciparum* provenant de voyageurs
 - ✓ Avant traitement (**n = 477**)
 - ✓ Après rechute parasitaire (**n = 1**)

- Méthodes
 - ✓ Phénotypage atovaquone (**test isotopique** → CI_{50})
 - Seuil de résistance $CI_{50} > 6 \text{ nM}^1$
 - ✓ Génotypage *pfcytb* (**séquençage** et **RFLP**)
 - Analyse RFLP² Y268S de tous les isolats
 - Séquençage des isolats $CI_{50} > 1,5 \text{ nM}$ (270 isolats)

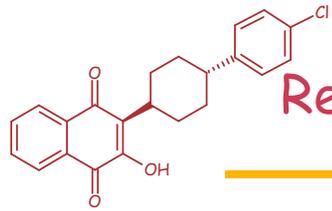
¹Gay 1997, *Am J Trop Med Hyg* 56:315-317 - Chiodini 1995, *J Antimicrob Chemother* 36:1073-1078 - ²Gil 2003, *Mol Cell Probes* 17:85-89



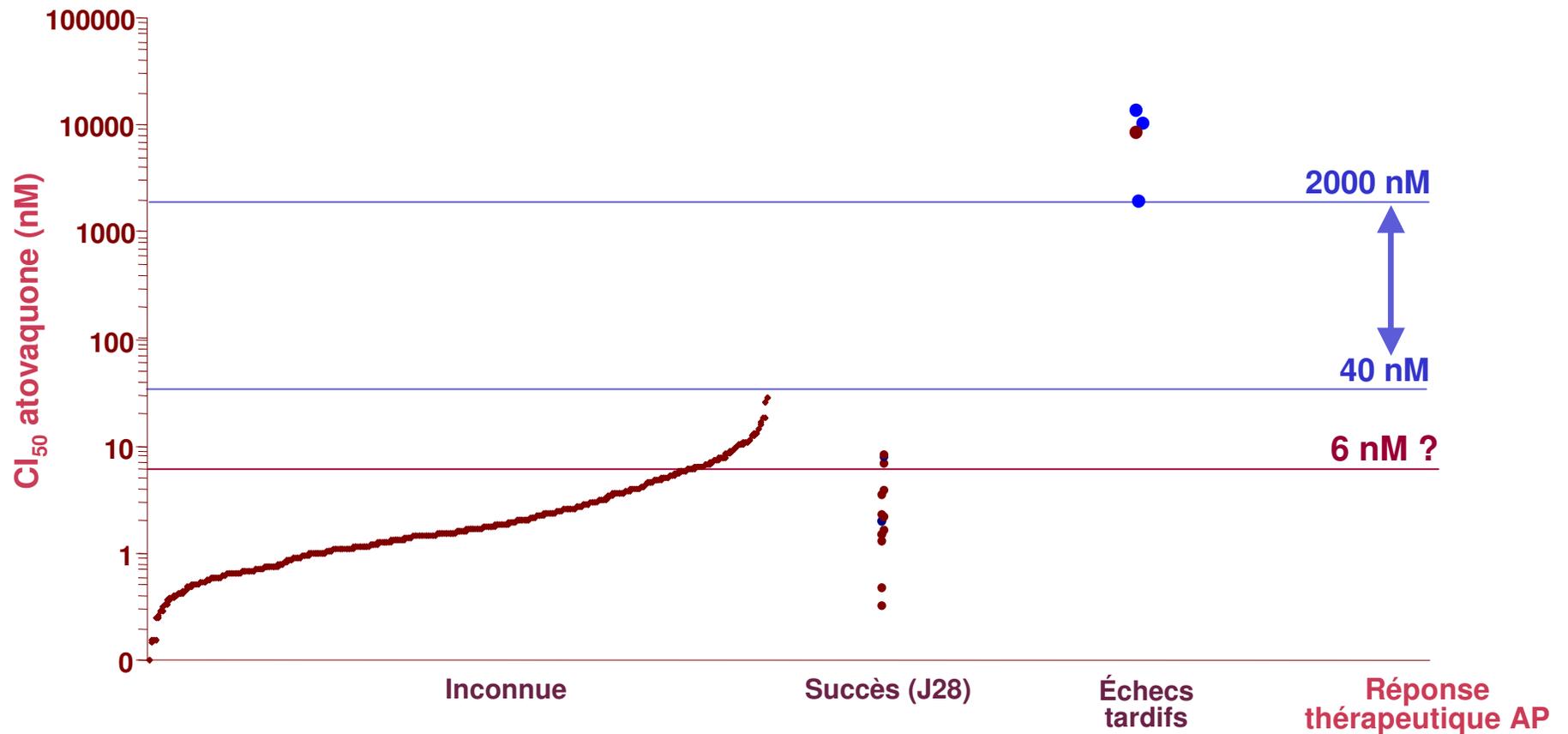
Relations phénotype atovaquone *in vitro* - génotype *pfcytb* (2)



→ **61** isolats résistants (13%)

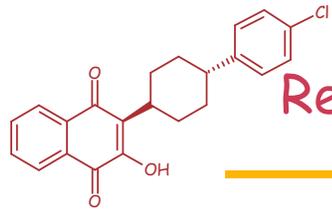


Relations phénotype atovaquone *in vitro* - génotype *pfcytb* (3)

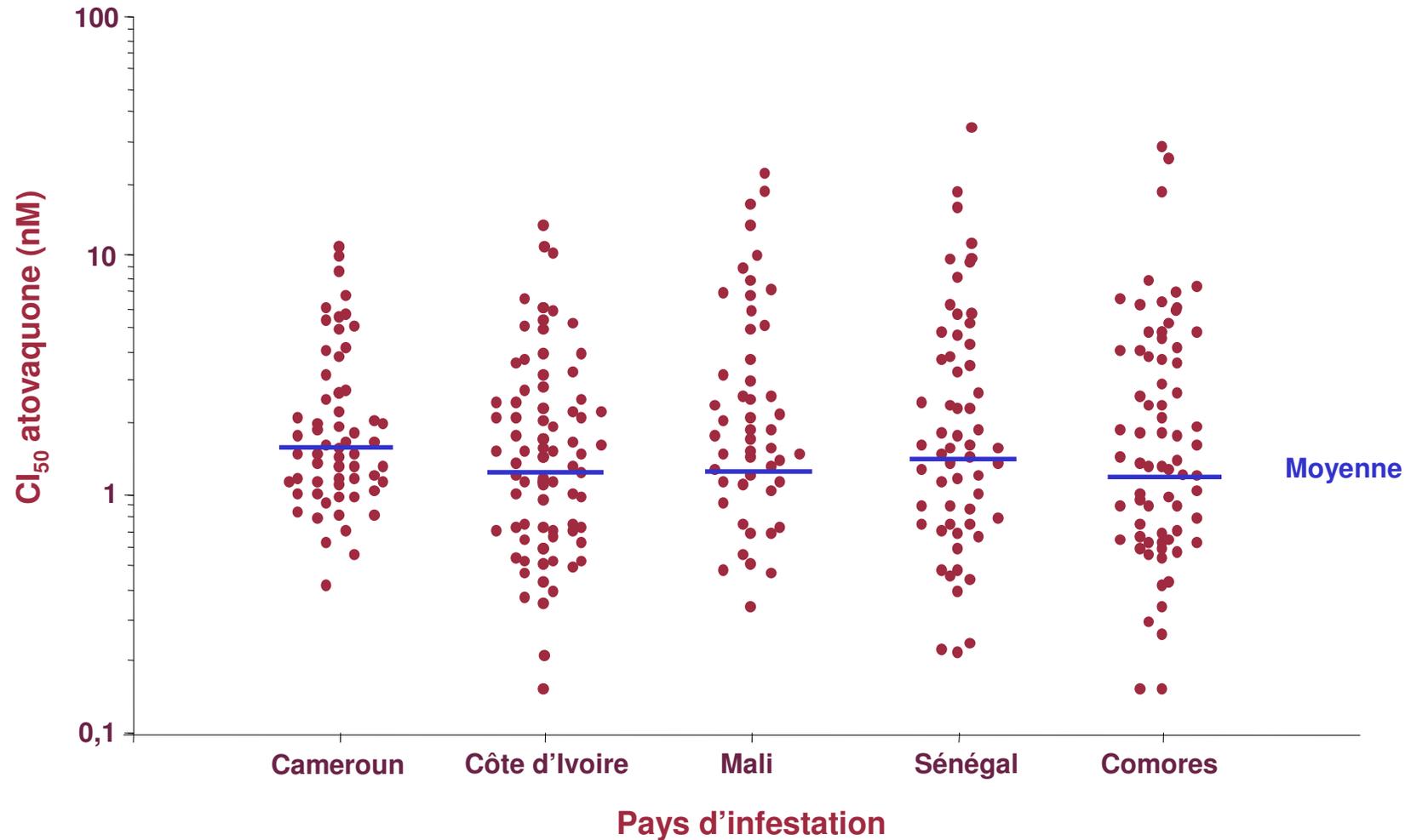


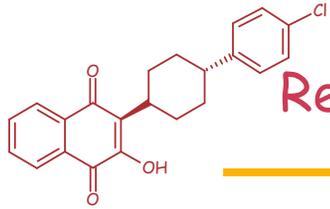
Musset 2006, *J Antimicrob Chemother* 57:110-115

Looreesuwan 1996, *Am J Trop Med Hyg* 54:62-66 - Fivelman 2002, *Malar J* 1:1 - Korsinczky 2000, *Antimicrob Agents Chemother* 44:2100-2108



Relations phénotype atovaquone *in vitro* - génotype *pfcytb* (4)





Relations phénotype atovaquone *in vitro* - génotype *pfcytb* (5)

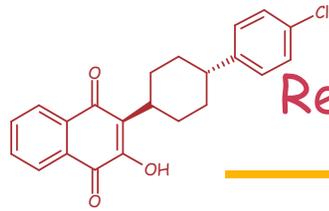
➤ 478 isolats analysés par RFLP

✓ **Y268S** chez isolat résistant issu de l'échec ($CI_{50} = 8230$ nM)

➤ 270 isolats analysés par séquençage

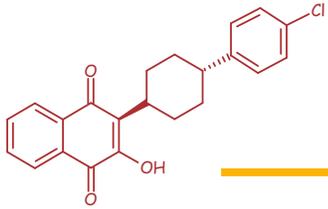
✓ **4 mutations** observées

- **H362Q** $CI_{50} = 3,6$ nM
- **V54L** $CI_{50} = 3,7$ nM
- **S70N** $CI_{50} = 4,6$ nM
- **F306L** $CI_{50} = 8,7$ nM



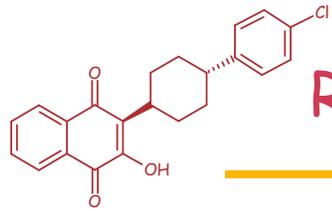
Relations phénotype atovaquone *in vitro* - génotype *pfcytb* (6)

- Seuil de résistance *in vitro* à l'atovaquone entre 40 et 2000 nM
- Aucune résistance détectée en Afrique de l'Ouest - Comores
- Premier échec thérapeutique
 - ✓ Au moment de l'échec (J26)
 - **CI₅₀ très élevée** (> 8000 nM)
 - **Mutation *pfcytb* Y268S**



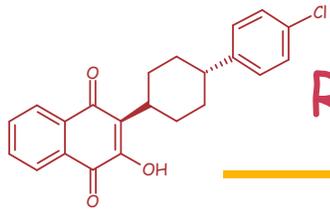
2^{ème} partie

Résistance à l'atovaquone de *P. falciparum* sélectionnée artificiellement



Résistance induite par pression médicamenteuse (1)

- Souche sensible 3D7 (10^7 parasites ; $CI_{50} = 1,21 \pm 0,21$ nM)
- Méthodes
 - ✓ Pressions atovaquone intermittentes
 - 3, 4, 5, 7, 8, 20, 20 deux fois et 50 nM
 - ✓ Analyse par séquençage des gènes codant
 - La dihydroorotate déshydrogénase (*pfdhod* ; 2,5 kb)
 - Le cytochrome *b* (*pfcytb* ; 1,1 kb)
 - ✓ Recherche d'une amplification génique de *pfcytb*



Résistance induite par pression médicamenteuse (2)

➤ Recherche d'une amplification génique de *pfcytb*

✓ Par PCR en temps réel

1) Amplification du gène de la dihydrofolate réductase (*pfdhfr*)

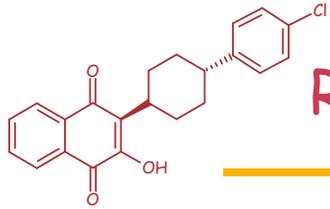
↳ nombre de parasites dans la prise d'essai

2) Amplification de (*pfcytb*)

↳ nombre de copies du gène *pfcytb* dans la prise d'essai

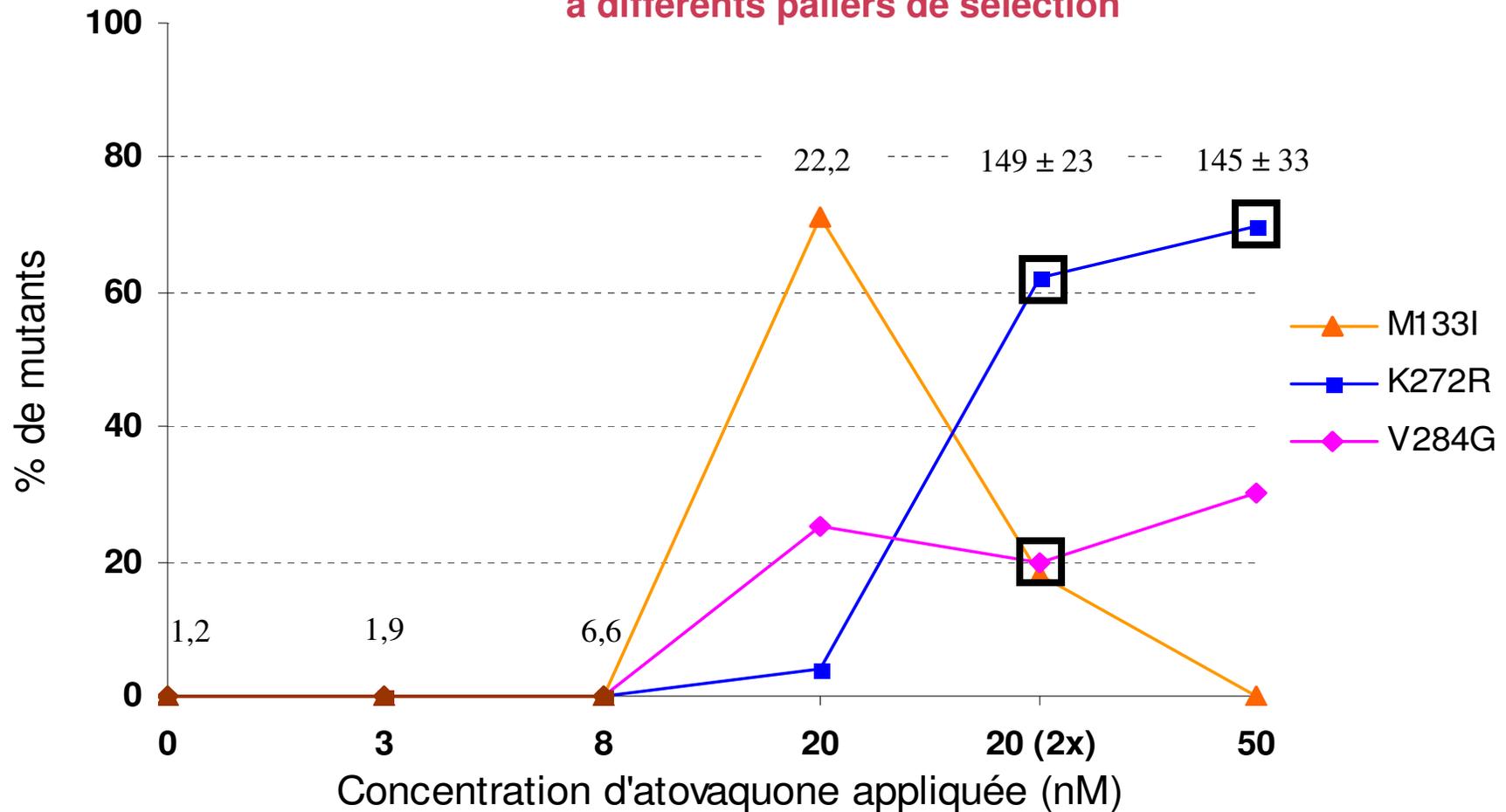
3) Nombre copies ***pfcytb*** / nombre copies ***pfdhfr***

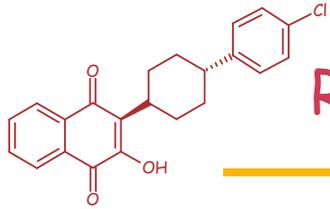
↳ nombre moyen de copies du gène ***pfcytb*** par parasite



Résistance induite par pression médicamenteuse (3)

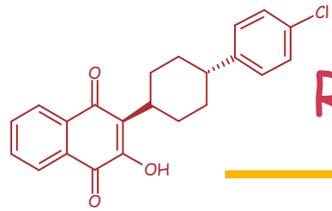
Génotype *pficytb* en fonction du phénotype *in vitro* à l'atovaquone (nM) à différents paliers de sélection



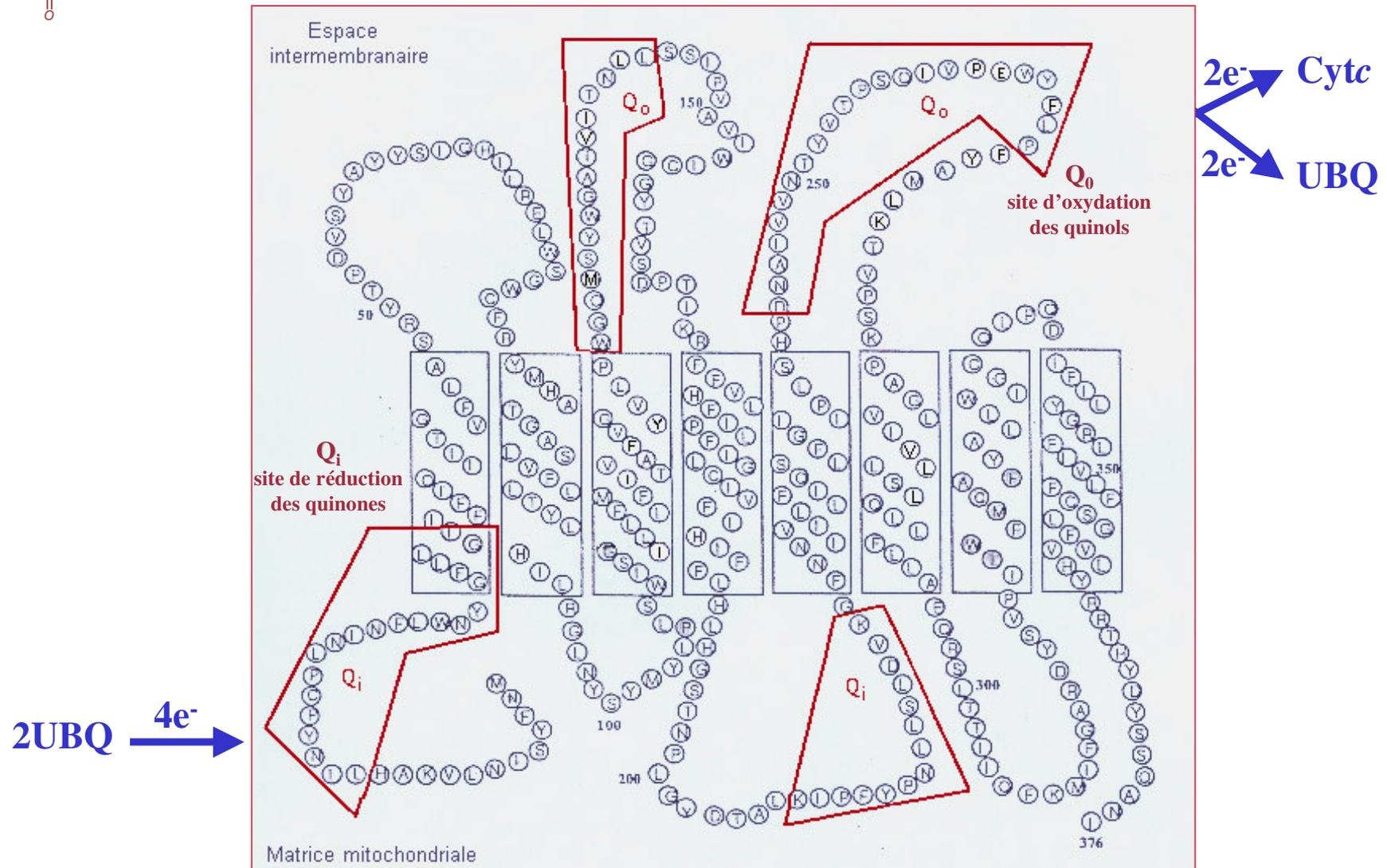


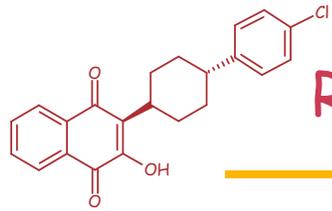
Résistance induite par pression médicamenteuse (4)

	Cl ₅₀ atovaquone (nM)	Gène <i>pfcytb</i>		Gène <i>pfdhod</i>
		Mutations	Nbre copies	
3D7	1,21 ± 0,21	Référence	37 ± 3	Référence
PAV20bC	40,1 ± 2,7	V284G	74 ± 10	Aucune
PAV20bA	187 ± 8	K272R	45 ± 3	Aucune
PAV50	175 ± 20	K272R	35 ± 5	Aucune

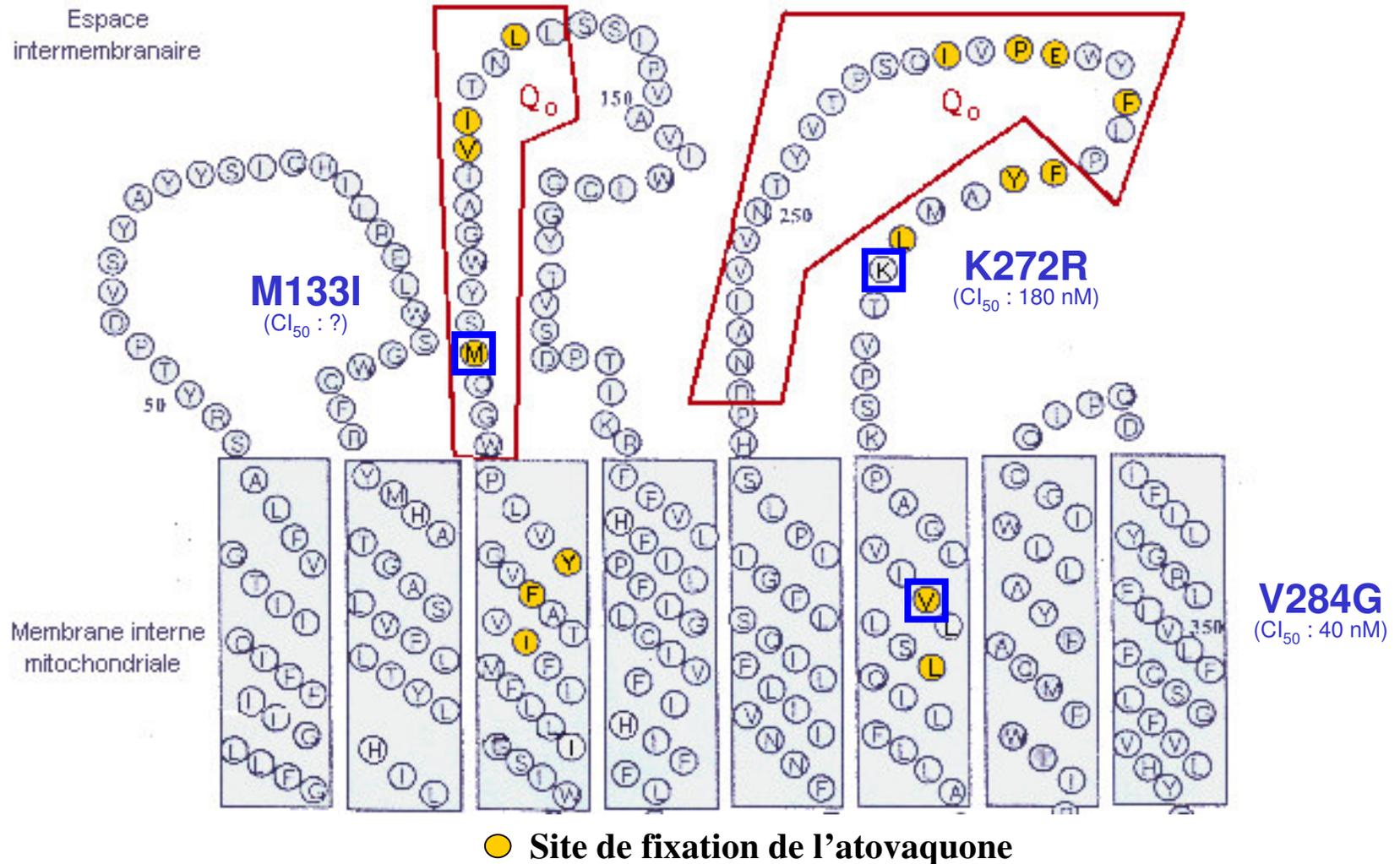


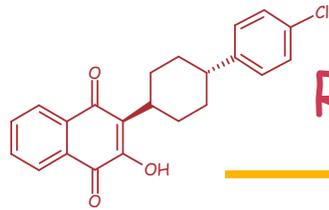
Résistance induite par pression médicamenteuse (5)



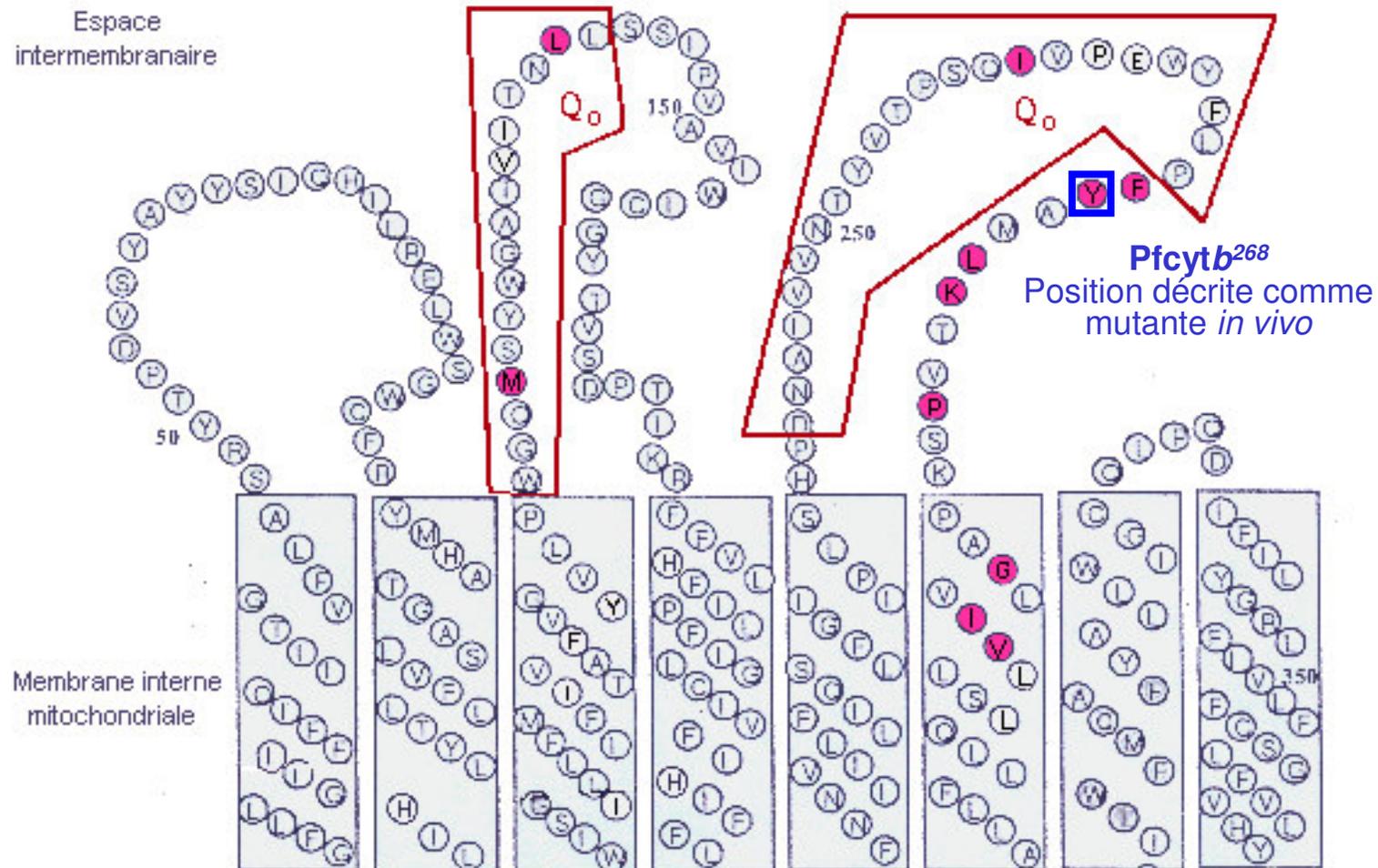


Résistance induite par pression médicamenteuse (6)





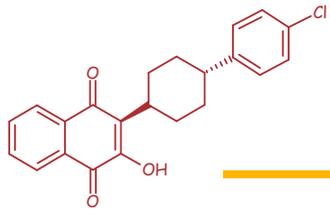
Résistance induite par pression médicamenteuse (7)



● Mutations liées à la résistance expérimentale

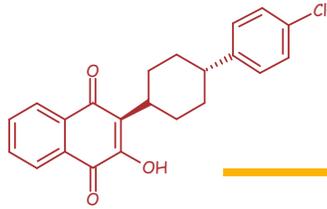
Srivastava 1999, *Mol Microbiol* 33:704-711 - Syafruddin 1999, *Mol Biochem Parasitol* 104:185-194

Korsinczky 2000, *Antimicrob Agents Chemother* 44:2100-2108 - Musset résultats non publiés - Schwöbel 2003, *Malar J* 2:5



3^{ème} partie

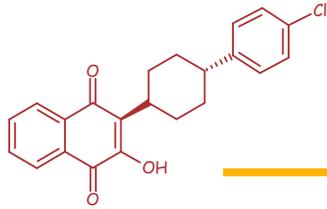
Résistance à l'atovaquone-proguanil
de *P. falciparum* observée *in vivo*



Résistance à l'atovaquone-proguanil *in vivo* (1)

Janvier 2003 - Septembre 2005

- Patients impaludés par *P. falciparum*
traités par atovaquone-proguanil (n=298)
↳ **6 échecs thérapeutiques observés**
- Échecs thérapeutiques extérieurs
signalés au Centre de Référence (**n=4**)



Résistance à l'atovaquone-proguanil *in vivo* (2)

➤ Analyse détaillée des isolats associés à un échec

✓ J0 et jour de l'échec

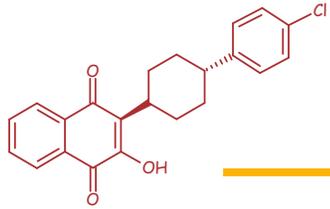
Génotypage de *pfcytb*¹

Phénotypage *in vitro* à l'atovaquone²

✓ J3

Dosages plasmatiques d'atovaquone-proguanil-cycloguanil³

¹Gil 2003, *Mol Cell Probes* 17:85-89 - ²Le Bras 1984 *Pathol Biol* 32:463-466 - ³de Angelis 1994, *J Chromatogr B* 652:211-219



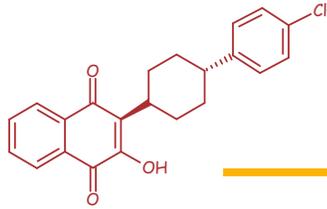
Résistance à l'atovaquone-proguanil *in vivo* (3)

➤ Contrôle J3 positifs

- Sans fièvre
- > 96% sans échec associé
 - ✓ Parasitémie entre 1-250 ‰
 - ✓ Négativation entre J4 et J9

→ Parasitémie résiduelle

(action lente de l'AP sur la clairance parasitaire)

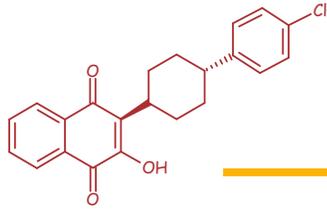


Résistance à l'atovaquone-proguanil *in vivo* (4)

Classification des échecs thérapeutiques (ET)

- Échec **sans** résistance parasitaire associée
 - ✓ Concentrations inefficaces de principe actif
 - ✓ **Et** parasites sensibles *in vitro*

- Échec **avec** résistance parasitaire associée
 - ✓ Concentrations efficaces de principe actif
 - ✓ **Ou** parasites résistants *in vitro*

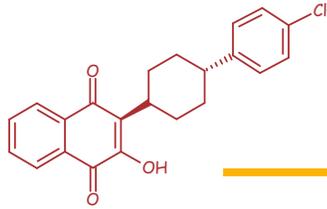


Résistance à l'atovaquone-proguanil *in vivo* (5)

Échecs thérapeutiques sans résistance parasitaire associée

		Patient n° 1	Patient n° 2	Patient n° 3
Pays d'infestation		Mali	Côte d'Ivoire	Mali
Parasitémie avant traitement (J0)		0,02%	0,3%	0,007%
J3	Parasitémie	0,5%	0,03%	Négative
	Fièvre	40°C	Aucune	Aucune
Parasitémie le jour de l'échec (Jéchec)		J3 : 0.5%	J7 : 1%	J11 : 0.75%
Interrogatoire à J3		J1 : vomissement	Repas maigre	2cp/j 3 jours
[Atovaquone efficace] J3 = 8,9 µg/l ± 5		3	<1,4	<1,4
Phénotype atovaquone (Seuil CI ₅₀ > 40nM)	Avant	ND	0,78	ND
	Après	9,89	1,49	7,87
Génotype <i>pf</i> cyt <i>b</i>	Avant	Sauvage	Sauvage	Sauvage
	Après	Sauvage	Sauvage	Sauvage

→ Aucune mutation observée au niveau du gène du cytochrome *b*

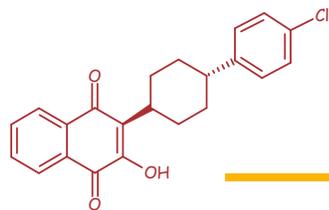


Résistance à l'atovaquone-proguanil *in vivo* (6)

Échecs thérapeutiques **avec** résistance parasitaire associée

	Patient n° 4	Patient n° 5	Patient n° 6	Patient n° 7	Patient n° 8
Pays d'infestation	Burkina Faso	Mali Burkina Faso	Guinée	Côte d'Ivoire	Côte d'Ivoire
Parasitémie					
Jo	0,35%	ND	13%	4%	0,15%
Jéchec	J22 : 0,47%	J25 : 0,04%	J26 : 5%	J26 : 5%	J39 : 0.25%
Remarque	J7 parasitémie indécélable <i>pfcytb</i> sauvage	Deux traitements J0 et J21	1 traitement 2 cp/j 6 jours	Hospitalisé	4cp + 1 traitement à J22
[Atovaquone efficace] J3 = 8,9 µg/l ± 5	J3 : 13,4	J2 2 ^{ème} ttt : 10,1	ND	J26 : 1,9	J8 : 4,1
Phénotype atov. (Jéchec) (Seuil CI ₅₀ > 40nM)	17 000	Échec	8230	Échec	10 400
Génotype <i>pfcytb</i>					
Avant	Tyr ²⁶⁸ , Ser ²⁹⁹	ND	Tyr ²⁶⁸	Tyr ²⁶⁸	Tyr ²⁶⁸
Après	Cys ²⁶⁸ , Ser ²⁹⁹	Ser ²⁶⁸	Ser ²⁶⁸	Cys ²⁶⁸	Ser ²⁶⁸

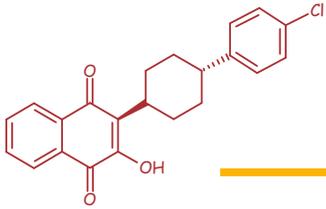
→ Mutations au niveau du codon 268 de *pfcytb* associées à la résistance indétectables avant la pression médicamenteuse



Résistance à l'atovaquone-proguanil *in vivo* (7)

Échecs thérapeutiques non classés

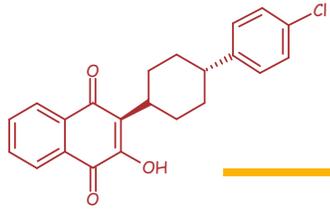
	Patient n° 9	Patient n° 10
Pays d'infestation	Mali	Sénégal Burkina Faso
Parasitémie (J0)	0,2%	ND
Parasitémie (Jéchec)	J3 : 1,1%	J28 : 1,5%
Remarque	J2 : vomissement	100kg, hospitalisée
[Atovaquone efficace] J3 = 8,9 µg/l ± 5	J3 < 1,4	J3 : 1,4
Phénotype atov. (Jéchec) (Seuil CI ₅₀ > 40nM)	ND	Échec
Génotype <i>pficytb</i>	Avant	ND
	Après	Ser ²⁶⁸
	Échec sans résistance	Échec avec résistance



Résistance à l'atovaquone-proguanil *in vivo* (8)

Recommandations cliniques

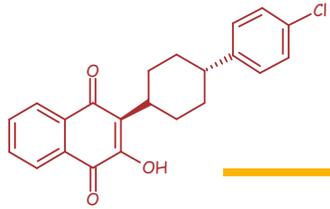
- Administration des comprimés associée à un **repas gras**,
- **Nouvelle prise** en cas de vomissement dans l'heure,
- Attention aux personnes en **surpoids**,
- Parasitémie positive à J3 (< J0) **ne pas changer de traitement**,
- **Suivi thérapeutique indispensable** au moins jusqu'à J28.



Résistance à l'atovaquone-proguanil *in vivo* (9)

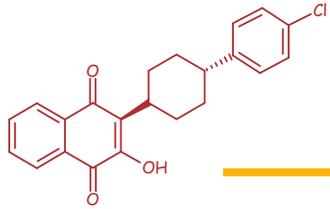
- Échec thérapeutique tardif (> **J20**)
- Fréquence d'échec lié à une résistance parasitaire : **0,7 %**
 $IC_{95\%}$ [0,08-2,39%]
- Présence d'une **mutation du codon 268 de *pfcytb***
 - ✓ Y268S
 - ✓ Y268C
 - ✓ Y268N¹

↳ Indétectable avant la pression médicamenteuse



4^{ème} partie

Origine des mutations *pfcytb*²⁶⁸
responsables de la résistance de *P. falciparum*
à l'atovaquone-proguanil

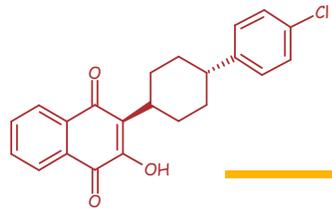


Origine des mutations *pfcytb*²⁶⁸ (1)

Hypothèses

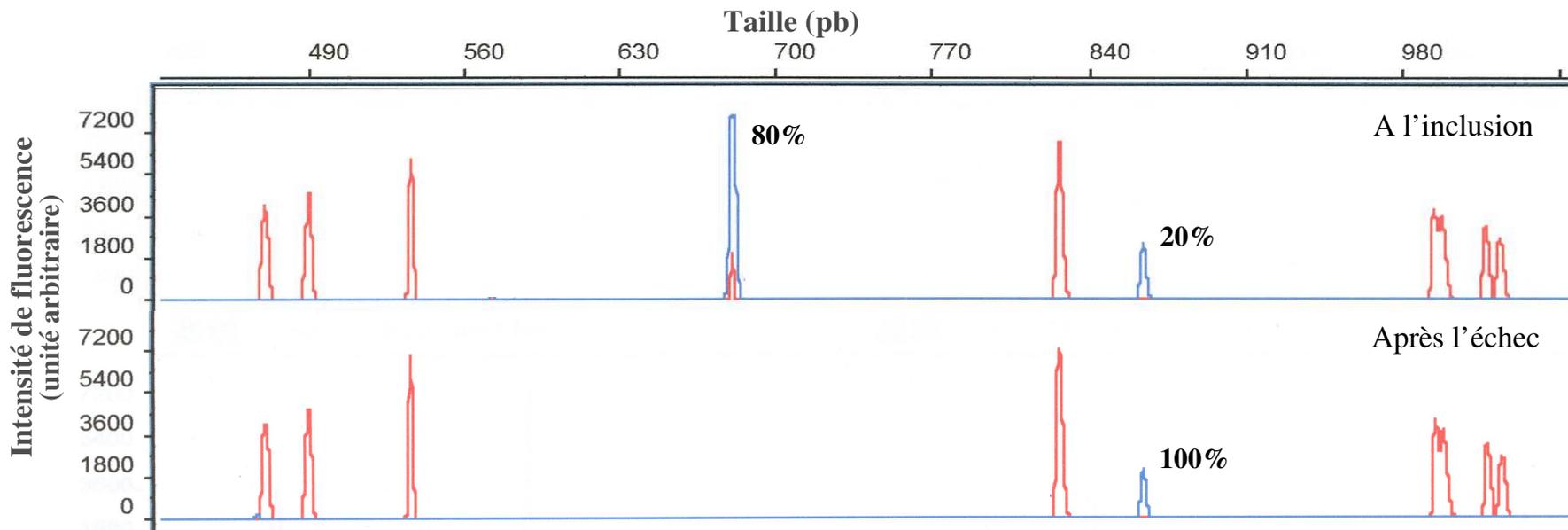
1) Clone muté pré-existant sélectionné par le traitement





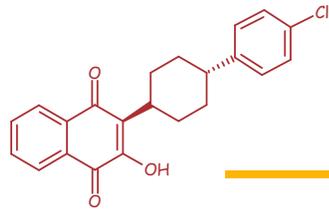
Origine des mutations *pfcytb*²⁶⁸ (2)

Hypothèses



2) Mutant *de novo*, généré chez le patient à partir d'un clone sauvage

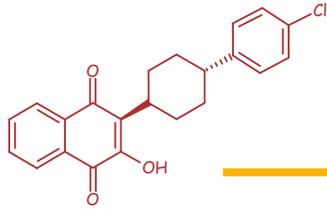
- ✓ par le polymorphisme naturel
- ✓ par l'action de l'atovaquone



Origine des mutations *pfcytb*²⁶⁸ (3)

- Analyse d'isolats résistants à l'atovaquone-proguanil
 - ✓ Souche de référence thaïlandaise résistante (J_0 - $J_{éch}$)
 - ✓ Isolats africains observés durant ce doctorat (J_0 n = 5 ; $J_{éch}$ n = 6)

- Détermination de leur fond génétique
 - ✓ Séquençage du génome mitochondrial (6 kb)
 - ✓ Analyse de cinq marqueurs microsatellites nucléaires

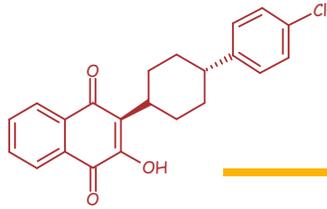


Origine des mutations *pfcytb*²⁶⁸ (4)

	ADNmt : variation de séquence (en paire de base)										
	8	1	1	1	1	3	4	4	4	4	5
	6	1	5	6	7	1	2	3	6	9	4
	7	6	0	9	7	6	9	8	2	5	5
		3	7	2	6	5	4	7	2	2	2
Référence ¹	G	G	A	G	T	C	A	G	A	C	*
IVC ₁ J26	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	*
IVC ₂ J39	T	-	T	-	-	-	C	-	-	T	T
UPV ₁ J28	-	-	-	-	-	T	C	-	-	-	*
UPV ₂ J22	-	-	-	-	-	-	G	A	-	-	*
UPV ₃ J25	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	*
GUI ₁ J26	-	A	-	T	-	-	C	-	G	-	*
THA ₁ Jéch	-	-	-	-	C	-	C	-	-	-	-

→ Pas de mutation commune à l'exception de la mutation de résistance

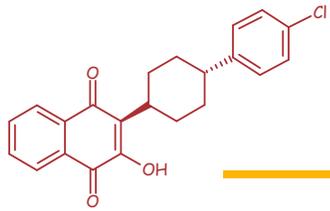
↳ Plusieurs origines indépendantes



Origine des mutations *pfcytb*²⁶⁸ (5)

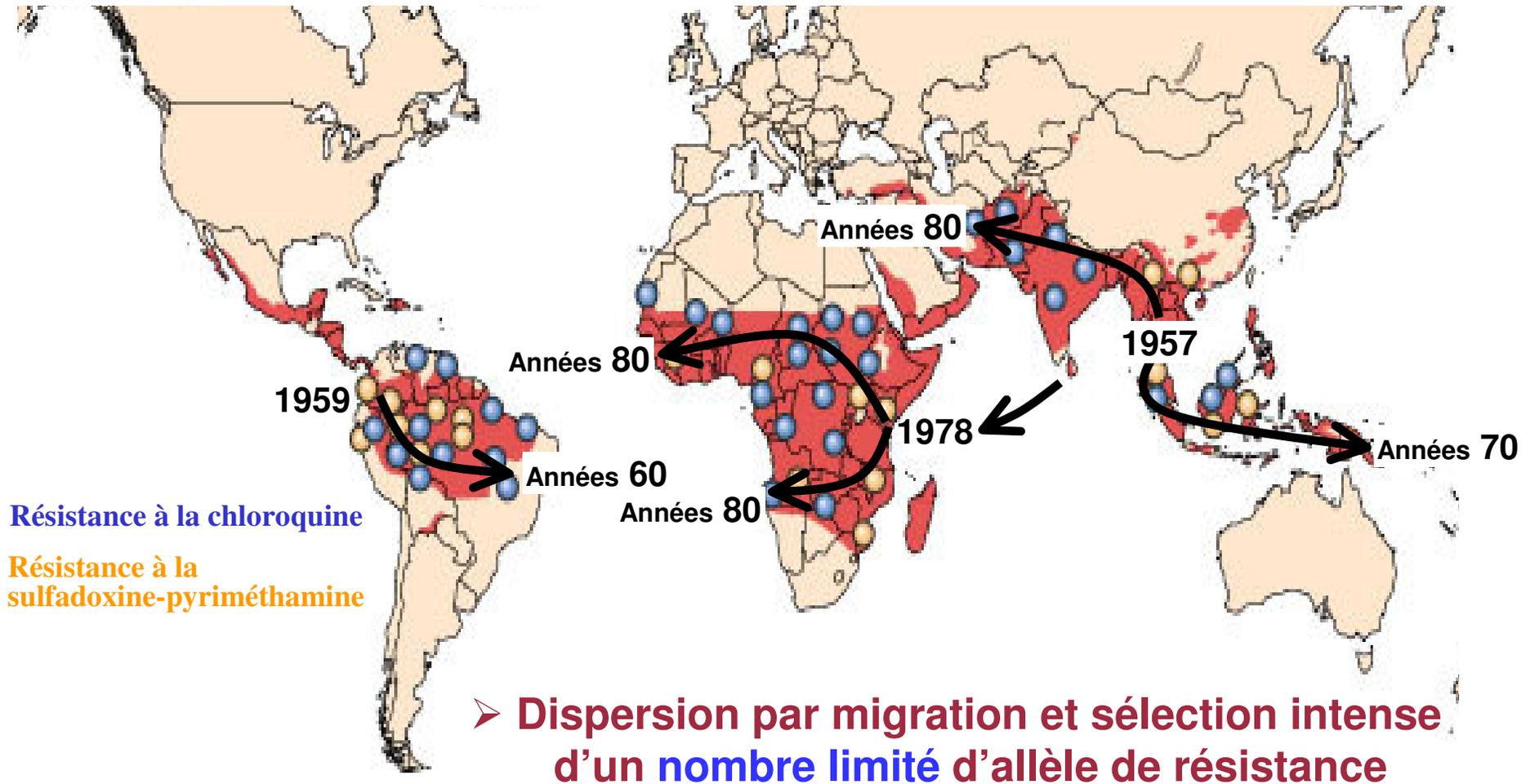
		ADNmt : variation de séquence										Microsatellite					
		8	1	1	1	1	3	4	4	4	4	5	T	T	A	P	T
		6	1	5	6	7	1	2	3	6	9	4	A	A	R	f	A
		7	6	0	9	7	6	9	8	2	5	5	A	A	A	P	A
			3	7	2	6	5	4	7	2	2	2	8	6	2	K	8
													7	0		2	1
Référence ¹		G	G	A	G	T	C	A	G	A	C	*					
IVC ₁	J0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	83	89	104	168	178
	J26	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	*	83	89	104	168	178
IVC ₂	J0	nd	nd	nd	-	-	nd	-	-	nd	nd	nd	83	77	101	171	175
	J39	T	-	T	-	-	-	C	-	-	T	T	83	77	101	171	175
UPV ₁	J0	-	-	-	-	-	T	-	-	-	-	*	83	86	110	174	172
	J28	-	-	-	-	-	T	C	-	-	-	*	83	86	110	174	172
UPV ₂	J0	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	*	80	71	98	165	175
	J22	-	-	-	-	-	-	G	A	-	-	*	80	71	98	165	175
UPV ₃	J25	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	*	80	86	104	162	166
GUI ₁	J0	-	A	-	T	-	-	-	-	G	-	*	92	86	104	165	178
	J26	-	A	-	T	-	-	C	-	G	-	*	92	86	104	165	178
THA ₁	J0	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	*	95	77	104	165	175
	Jéch	-	-	-	-	C	-	C	-	-	-	*	95	77	104	165	175

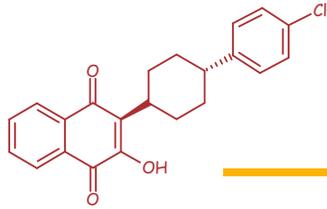
→ Mutation *de novo* chez le patient
 puis sélection de la résistance durant le traitement



Origine des mutations *pfcytb*²⁶⁸ (6)

Dispersion des résistances



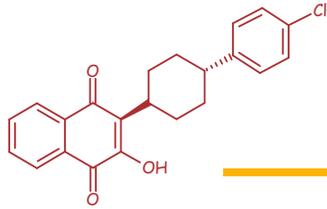


Origine des mutations *pfcytb*²⁶⁸ (7)

Les limites de l'atovaquone-proguanil

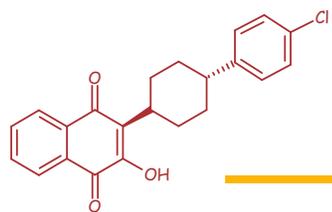
Facteurs déterminants la probabilité d'émergence *de novo* de la résistance

1. Nombre de parasites exposés au traitement	10 ¹¹
2. Niveau d'immunité des patients	Aucune
3. Concentrations plasmatiques et pharmacocinétique	Variabilité
4. Mécanisme de résistance	1 SNP (10 ⁻⁵ -10 ⁻⁶)
5. Niveau de résistance obtenu	Très élevé (3-4 log)
6. Fitness associé à la résistance	?
7. Utilisation des antipaludiques en association	?



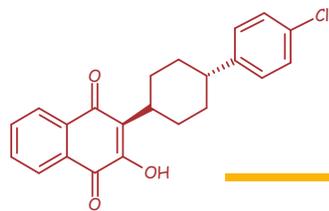
Conclusions

- Association efficace et très bien tolérée
- Les mutations du codon 268 de *pfcytb* associées à la résistance
 - ✓ Indétectables dans les populations naturelles
 - ✓ Associées à des échecs thérapeutiques tardifs (J20-J30)
 - ✓ Indétectables avant la pression médicamenteuse
 - ✓ Sélectionnées *de novo* au cours du traitement (0,7 %)
 - ↳ **Plusieurs foyers d'émergence**
 - ✓ Transmission très peu probable



Remerciements





Je vous remercie de votre attention !...